Aus der Med. Universitäts-Poliklinik Bonn
Direktor: Prof. Dr. Tiemann.

Quantitative Bestimmungen der unverseifbaren Substanzen in Nahrungsfetten.

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung des Doktorgrades

der Hohen Medizinischen Fakultät

der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität zu Bonn.

Vorgelegt im September 1939

von

Kurt Ehresmann
Arzt
aus Merzig/Saar.

BONN 1939
Anton Brand, Bonn.

Gedruckt
mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Bonn.

Referent: Prof. Dr. Fr. Tiemann
Korreferent: Prof. Dr. Grütz

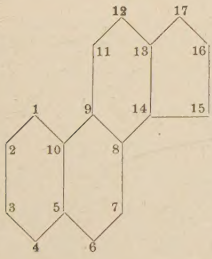
R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Quantitative Bestimmungen der unverseifbaren Substanzen in Nahrungsfetten. (Ux)

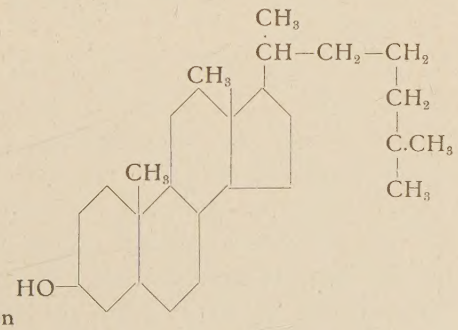
Bereits seit längerer Zeit beschäftigte man sich mit dem Cholesterinstoffwechsel. Neuerdings wurde die Frage wieder aufgerollt, ob in den Nahrungsfetten außer Cholesterin auch noch andere unverseifbaren Substanzen vorhanden wären.

Zur Erläuterung: Unter unverseifbaren Substanzen der Fette versteht man Bestandteile, die weder in Wasser löslich, noch durch Verseifen mit Alkalien in wasserlösliche Verbindungen übergeführt werden, noch bei 100° flüchtig sind. Die internationale Kommission zum Studium der Fettstoffe hat nach Kaufmann folgende Definition: Das Unverseifbare umfaßt die natürlichen unverseifbaren Stoffe (Sterine, Kohlenwasserstoffe, Fettalkohole usw.), sowie die bei 100° nicht flüchtigen, unverseifbaren organischen Stoffe (Mineralöle).

Der Aufbau der meisten Steine ist heute bekannt[1]): Als Grundskelett nimmt man ein Ringsystem an, das als Derivat des Cyclopentanoperhydrophenanthrens anzusehen ist, und außerdem durch Anwesenheit einer Hydroxylgruppe Alkoholcharakter haben. Die einzelnen Sterine unterscheiden sich durch ihren Sättigungsgrad und den Aufbau einer aliphatischen Seitenkette, die sie im C-Atom 17 tragen.



Cyclopentano-perhydro-phenanthren



Cholesterin

Einzelne Bestandteile des Unverseifbaren:

Alle tierischen und pflanzlichen Fette und Öle enthalten in ihrem sogenannten Unverseifbaren Sterine und zwar die tierischen Cholesterine, die pflanzlichen Phytoesterine.

Schon im Jahre 1912 wurde durch Wacker[2]) festgestellt, daß UX im menschlichen Depotfett bei Vorhandensein eines Carcinoms in vermehrtem Maße vorkommen.

Außerdem wurde dieses auch bei anderen Krankheiten wie Tuberkulose und Lues festgestellt. Ebenso wurde im Blut außer Cholesterin noch andere unverseifbaren Substanzen gefunden.

Untersuchungen über Ux an Psoriasis-Schuppen ergaben nach Feststellungen von Blankenberg[3]) beispielsweise bei 100 g Schuppenfett 23,17 g Ux. Auf Grund dieser Tatsachen war es nun naheliegend, einmal die unverseifbaren Substanzen in den wichtigsten Nahrungsfetten quantitativ zu bestimmen, welche Aufgabe ich mir in nachfolgender experimenteller Arbeit vorgenommen habe. Die Abtrennung des Unverseifbaren ist an und für sich einfach: Man verseift die Fette, entzieht der Seifenlösung mittels Äther oder Petroläther die darin löslichen Stoffe und wägt sie. In der Durchführung jedoch bietet diese Bestimmung mancherlei Schwierigkeiten.

Bei meinen Versuchen habe ich die gebräuchlichsten Nahrungsfette auf ihren Gehalt an Wasser, Salzen, Gesamtfett, Cholesterin und cholesterinfreien unverseifbaren Substanzen untersucht; nämlich Untersuchungen an Butter, Margarine, Schweineschmalz, Hammelfet und Knochenmarkfett vom Rind.

Methodik:

Zuerst wurde der Wassergehalt des Nahrungsfettes bestimmt. Dazu wurde in ein sorgfältig getrocknetes Wägegläschen eine bestimmte Menge des Nahrungsfettes eingewogen und das Wasser in einem Trockenschrank bei 55° zum Verdunsten gebracht. Höhere Temperaturen wurden nicht verwandt, um keine andere Substanzen zu verjagen. Das Nahrungsfett blieb dabei solange im Trockenschrank, bis das Gewicht konstant war. Dann wurde die bestimmte Menge Nahrungsfett im Äther gelöst, in einen größeren Kolben überführt und mit weiterem Äther bis 500 ccm aufgefüllt, um später von

diesem Ätherextrakt für die einzelnen Untersuchungen eine bestimmte Menge zu entnehmen.

Die äther-unlöslichen Salze des Nahrungsfettes blieben als Restsubstanzen im Wägegläschen und konnten dann gewogen werden.

Zur Feststellung des Gesamtfettgehaltes des Nahrungsfettes wurde ein bestimmter Teil des Ätherextraktes in ein Wägegläschen gebracht, im Brutschrank bei 37° der Äther abgedampft, der Rückstand gewogen und daraus der Gesamtfettgehalt errechnet.

Eine weitere Menge Ätherextrakt diente zur Bestimmung des freien und veresterten Cholesterins (Digitoninfällung nach der Methode von Windaus). Hierbei wurden 15 ccm des Extrakts in einen Erlenmeyerkolben überführt, der Äther abgedampft und der gelbliche, schmierige Rückstand mit reichlich Alkohol (ungefähr 100 ccm) in einen zweiten Kolben filtriert; hier wurde von einer größeren Alkoholmenge ausgegangen, um die Fette in Lösung zu halten. Nach Zugabe von 15 ccm Digitonin wurde solange Aqua dest. zugeführt, bis ein Niederschlag auftrat. Die Lösung kam nun in den Brutschrank (37°), nach 5 Stunden wurde das Cholesterindigitonid abfiltriert und gewogen.

Aus dem Unverseifbaren wurde das cholesterinfreie nach einer Methode von Blankenburg gewonnen (Dissertation). Ich fällte das Gesamtcholesterin mit einem Überschuß von Digitonin und entfernte diesen Überschuß dann wieder aus dem „Restunverseiflichen".

Einige unverseifbaren Substanzen geben die Burghardt-Liebermannsche Reaktion, obwohl sie mit Digitonin nicht fällbar sind. Damit ist bewiesen, daß die colorimetrische Bestimmung ungenau ist. Eine bestimmte Menge des Nahrungsfettes wurde in Äther gelöst, in einen Rundkolben überführt und darin auf einer elektrischen Sandplatte fast bis zur Trockne gebracht. Anschließend wurde mit alkoholischer Natronlauge, die durch Auflösen von 1,5 g metallischem Natrium in 96% Alkohol hergestellt war, in den Rundkolben zugegeben. Nach sechsstündiger Verseifung bei höheren Temperaturen wurde der Alkohol fast völlig eingedampft, der Rückstand mit viel Wasser aufgenommen, in einen Schütteltrichter überführt und die unverseifbaren Substanzen mit Petroläther von den anderen Sub-

stanzen getrennt. Nachdem der Petroläther auf einem Sandbad abgedampft war, wurde der Rückstand mit Alkohol aufgenommen und nach der Digitonin-Methode das Gesamtcholesterin ausgefällt. Nach Trennung des Cholesterin-Digitonids von dem „Rest-Unverseiflichen" und dem überschüssigen Digitonin wurde die Lösung eingedampft und nach der Methode von Lifschütz[4]) mit Natriumacetat und Alkohol versetzt und ca. eine Stunde erhitzt. Nachdem das überschüssige Digitonin an das Acetat gebunden war, wurde der erkalteten Lösung etwa 250 ccm Äther beigefügt und filtriert. Das dabei erhaltene ätherische Filtrat wurde eingedampft, mehrmals mit Wasser versetzt und in einen Schütteltrichter überführt, um das überschüssige Natriumacetat von den unverseifbaren Substanzen zu trennen. Das reine ätherische Filtrat wurde eingedampft, in ein konstantes Wägegläschen überführt und bei 37° im Brutschrank zur Trockne gebracht.

Versuchsergebnisse:

In den nachfolgenden Tabellen ist der Gehalt der verschiedenen Nahrungsfette an Wasser, Salze, Gesamtfett, freies-, gesamtes- und Estercholesterin zusammengefaßt.

TABELLE I: (Untersuchung an der Butter)

Wassergehalt d. Butter i. %	Salzgehalt d. Butter in %	Gesamtfettgeh. d. Butter	freies Cholesterin in %	Gesamtchol. in %	Esterchol. in %
15,06	0,60	84,02	0,925	0,925	
14,95	0,57	83,92	0,99	0,99	
		Mittelwerte:			
15,01	0,59	84,01	0,958	0,958	

TABELLE II: (Untersuchung an der Margarine).

Wassergehalt d. Marg. i. %	Salzgehalt d. Margarin. i. %	Gesamtfettgehalt in %	freies Chol. in %	Gesamtchol. in %	Esterchol. in %
16,52	0,77	82,10	keine	0,10	
16,15	0.90	82,86	Fällung	0,12	
		Mittelwert:			
16,34	0,84	82,48	—	0,11	

Bemerkungen zur Tabelle II.

Die Margarine ist in verschiedene Sorten eingeteilt: Konsumware, Mittelsorte und Spitzensorte. Bei meinen Versuchen bin ich von der Konsumware ausgegangen. Nach Angaben der Margarinefirma „Benedikt Klein", Margarinewerk Köln, setzt sich dieses Nahrungsfett aus folgenden Stoffen zusammen:

1. gehärtetes Erdnußöl.
2. Palmkern- oder Kokosfett,
3. Speiseöl (Soja),
4. gehärteter Tran (ganz geringe Mengen).

Als Zusatzstoffe dienen:

10% Magermilch,
1,5‰ Konservierung (bensoesaures Natron),
2‰ Kartoffelmehl,
3‰ Lezithin (Soja),
1—1,5 Meierei (Siede)-Salz.

Wegen Kontingentierung der ausländischen Fette ändert sich die Zusammensetzung dauernd. Da nur ganz geringe Mengen animalisches Fett (geh. Tran) zur Verarbeitung kommen, verlief auch die Cholesterinprobe (Burghardt-Liebermannsche Probe) nur ganz schwach positiv.

> Wird Cholesterin in Chloroform gelöst und in soviel Essigsäureanhydrid eingetragen, wie in der Kälte gelöst bleiben kann, dann unter Abkühlen tropfenweise conc. Schwefelsäure zugesetzt, so färbt sich die Flüssigkeit rosarot, dann aber, und zwar besonders auf Zusatz einer kleinen Menge Schwefelsäure, blau.

Als Nebenversuch stellte ich gleichzeitig eine Untersuchung der Margarine-Mittelsorte an und konnte hier feststellen, daß die Verhältnisse wesentlich anders liegen.

In 100 g dieser Margarine waren nämlich 30,53 g Ux enthalten. Bemerken muß ich jedoch an dieser Stelle, daß es sich hier allerdings nicht um eine Kontrolluntersuchung handelt. Es ist jedoch hierdurch der Beweis erbracht, daß durch die verschiedene Zusammensetzung sich auch der Gehalt an unverseifbaren Substanzen stark verändert.

TABELLE III: (Untersuchung am Hammelfett).

Wassergeh. d. Hammelfett in %	Salzgeh. d. H. in %	Gesamtfettgeh. d. H. i. %	freies Chol. d. H. in %	Gesamtchol. d. H. in %	Esterchol. d. H. in %
neg.	neg.	95,91	keine	keine	
		95,34	Fällung	Fällung	
		Mittelwert:			
		95,52			

Bemerkung zur Tabelle III.

Zu meinen Versuchen verwandte ich ausgelassenes Nierenfett, welches in Äther gelöst wurde. Auch hier ließ sich mit der Burghardt-Liebermannschen Probe überhaupt kein Cholesterin nachweisen.

TABELLE IV: (Untersuchungen am Schweineschmalz).

Wassergehalt d. Schw. i. %	Salzgehalt d. Schw. in %	Gesamtfett. d. Schw. i. %	freies Chol. d. Schw. i. %	Gesamtchol. d. Schw. i. %	Esterchol. d. Schw. in %
neg.	neg.	98,61	keine	0,095	
		98,04	Fällung	0,10	
		Mittelwert:			
		98,32		0,098	

Bemerkung zur Tabelle IV.

Je nach der Bereitungsweise, Güte und Herkunft unterscheidet man Rohschmalz und Dampfschmalz. Zu den Untersuchungen wurde ausgelassenes Schweineschmalz verwandt und in Äther gelöst. Dieses Nahrungsfett ging dabei restlos in Lösung. Die Burghardt-Liebermannsche Probe war in diesem Falle positiv.

TABELLE V: (Untersuchungen am Knochenmarkfett, Rind).

Wassergehalt d. Knochenmark in %	Salzgehalt d. Kn. in %	Gesamtfett d. Kn. in %	freies Chol. d. Kn. in %	Gesamtchol. d. Kn. in %	Esterchol. d. Kn. i. %
neg.	neg.	95,91		0,19	
		95,90		0,185	
		Mittelwert:			
		95,905		0,188	

Bemerkung zur Tabelle V.

Das Knochenfett wurde mit Äther extrahiert und der Ätherextrakt für die einzelnen Untersuchungen weiter verarbeitet. Auch in diesem Falle war die Burghardt-Liebermannsche Probe positiv.

Quantitativ ist das „Rest-Unverseifbare" der einzelnen Nahrungsfette in folgender Tabelle zusammengefaßt:

TABELLE VI.

Butter in 100 g	Margarine in 100 g	Schweineschmalz in 100 g	Hammelfett in 100 g	Knochenmarkfett in 100 g
8,88	6,34	0,93	0,76	5,87
8,46	5,97	0,92	0,73	5,23
		Mittelwert:		
8,67	6,15	0,925	0,745	5,55

Es wäre nun eine weitere Aufgabe darin zu erblicken, Kot auf unverseifbare Substanzen zu untersuchen. Und zwar nachdem dem menschlichen Körper eine bestimmte Menge Nahrungsfette verabreicht wurden. Man könnte auf diese Weise feststellen, ob die unverseifbaren Substanzen im Kot in höherem Prozentsatz vorhanden sind, wie sie in den Nahrungsfetten festgestellt wurden. Es wäre dies somit ein Beweis, daß im menschlichen Körper Endogen Ux teilweise gebildet werden kann. Wäre jedoch der Prozentsatz an Ux im Kot geringer als in den Nahrungsfetten, so könnte man annehmen, daß der menschliche Körper teilweise die unverseifbaren Substanzen resorbiert (z. B wie bereits eingangs erwähnt, bei besonderen Krankheiten wie Carcinom, Tbc. und Psoriasis).

ZUSAMMENFASSUNG.

Das wesentliche Ergebnis der vorliegenden Arbeit war die Feststellung des „Rest-Unverseifbaren“ in Nahrungsfetten (siehe Tabelle VI). Daneben wurde der Gehalt der verschiedenen Nahrungsfetten an Wasser, Salze, Gesamtfett, freies und gesamtes Cholesterin bestätigt.

LITERATUR.

1. Die Untersuchung, die zur Konstitutionsaufklärung geführt haben, sind mit den Namen Windaus, Diels und Mauthner verbunden.
2. Wacker, Hoppe-Seylers Z. 80, 384 (1912).
3. Blankenburg: Inaug.-Diss. Bonn 1937.
4. Lifschütz, Biochem. Zeitschr. B, 282, 441 (1935).

Meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. Fritz Tiemann, bin ich für die Überlassung des Themas und die Anregungen, die er mir bei der Durchführung der Arbeit gab, zu großen Dank verpflichtet.

LEBENSLAUF.

Ich, Kurt Ehresmann, wurde am 8. 5. 1910 in Saarbrücken als Sohn des Kaufmannnes Jakob Ehresmann und seiner Ehefrau Anna, geb. Teuscher, geboren. Nach dem Besuche der Ober-Realschule in Saarbrücken bestand ich Ostern 1932 die Reifeprüfung.

Sommersemester 1932 begann ich das medizinische Studium in Berlin. Sommersemester 1933 studierte ich in Heidelberg. Nach dem 5. Semester bestand ich dort die ärztliche Vorprüfung. Die klinischen Semester verbrachte ich in München und Bonn.

Am 12. 4. 1938 bestand ich in Bonn das Staatsexamen. Ich war dann als Medizinalpraktikant im Städt. Bürgerhospital zu Saarbrücken, im Kreiskrankenhaus Merzig und in der Heil- und Pflegeanstalt zu Merzig tätig.

Am 1. Mai 1939 erhielt ich meine Bestallung als Arzt und bin seitdem als Assistenzarzt an der Heil- und Pfleganstalt angestellt.